

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP05/001371

International filing date: 11 February 2005 (11.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 10 2004 007 462.3
Filing date: 13 February 2004 (13.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 03 June 2005 (03.06.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 10 2004 007 462.3

Anmeldetag: 13. Februar 2004

Anmelder/Inhaber: Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 40225 Düsseldorf/DE

Erstanmelder: Carsten K o r t h , 40219 Düsseldorf/DE

Bezeichnung: Antikörper sowie Verfahren zur Diagnose und Behandlung von Schizophrenie

IPC: C 07 K, A 61 K, G 01 N

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 5. April 2005
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Stanschus

Patentanwälte Schaefer & Emmel

European Patent Attorneys

Dipl. - Phys. Konrad Schaefer

Dipl. - Biol. Dr. Thomas Emmel

Tel: (0)-40-6562051 Fax: -6567919

Gehölzweg 20, D-22043 Hamburg

Commerzbank 22 / 58226 Blz 200 40 000

Postbank 225058 - 208 Blz 200 10 020

13. Februar 2004

Uns. Zeichen: 03705

Carsten Korth

Antikörper sowie Verfahren zur Diagnose und Behandlung von Schizophrenie

Zusammenfassung:

Ein Antikörper für die Diagnose oder die Behandlung von Schizophrenie ist dadurch gekennzeichnet, dass der Antikörper fehlgefaltete, schizophrenie-spezifische Proteine erkennt.

Ein Verfahren zur Diagnose von Schizophrenie mittels Antikörpern, die an für neuropsychiatrische Erkrankungen spezifische Proteine binden, bei dem die Antikörper mit einer Gewebe- oder Körperflüssigkeitsprobe eines Patienten in Kontakt gebracht werden, gegebenenfalls gebildete Antikörper-Proteinkomplexe nachgewiesen werden, und das eventuelle Vorhandensein von Antikörper-Proteinkomplexen als positiver Befund für Schizophrenie gewertet wird, ist dadurch gekennzeichnet, dass bei dem Verfahren ein solcher Antikörper verwendet wird.

S-S-PAIB45UE\SUEANM\ALL03276.RTF

Patentanwälte Schaefer & Emmel

European Patent Attorneys

Dipl. – Phys. Konrad Schaefer

Dipl. – Biol. Dr. Thomas Emmel

Tel:(0)-40-6562051 Fax:-6567919

Gehölzweg 20, D-22043 Hamburg

Commerzbank 22 / 58226 Blz 200 40 000

Postbank 225058 – 208 Blz 200 10 020

13. Februar 2004

Uns. Zeichen: 03705

Carsten Korth

Antikörper sowie Verfahren zur Diagnose und Behandlung von Schizophrenie

Die vorliegende Erfindung betrifft Antikörper sowie Verfahren zur Diagnose und Behandlung von Schizophrenie mittels Antikörpern gemäß den Oberbegriffen der Ansprüche 1, 16, 20, 22 und 25.

Die Schizophrenie ist eine psychiatrische Erkrankung, die wahrscheinlich heterogene Ursachen hat. Aufgrund von Zwillingsstudien ist inzwischen anerkannt, daß biologische Ursachen für die Entstehung der Schizophrenie verantwortlich sind. Neuropathologisch findet sich bei Patienten mit Schizophrenie eine Erweiterung des dritten Hirnventrikels, was als unspezifisches Zeichen für einen Hirnstrukturverlust gewertet wird. Die Schizophrenie, zumindest eine Untergruppe der Schizophrenie, nämlich solche mit ausgeprägten sogenannten Negativsymptomen, kann den neurodegenerativen Erkrankungen zugeordnet werden (J. Lieberman 1999, Biological Psychiatry 46: 729f).

Es gibt bislang keine biologische Diagnostik der Schizophrenie. Zur Diagnosestellung werden von entsprechend ausgebildeten Ärzten (Psychiater, Nervenärzte)

S-S-PATTRANSFER\KORTH\040212-PREFINAL-SCHIZOPHRR.RTF

5

2

bestimmte psychiatrische Kardinalsymptome erfragt; dies kann durch sogenannte Checklisten objektiviert werden. Anders als bei internistischen oder neurologischen Krankheiten kann die Krankheit nicht mit Hilfe von Blut- oder Liquoruntersuchungen oder bildgebenden Verfahren diagnostiziert werden. Dies führt zu einer Unsicherheit in der Diagnostik.

Aus der WO 0026675 ist ein gattungsgemäßes Verfahren zur Diagnose von neuropsychiatrischen Erkrankungen bekannt, bei dem die Anwesenheit von Polyglutamin-haltigen Proteinen in einer Gewebe- oder Körperflüssigkeitsprobe eines Patienten mit Hilfe eines gegen Polyglutamin-haltige Proteindomänen gerichteten Antikörpers getestet wird. Die WO 0026675 führt weiter aus, daß es sich bei den mit diesem Verfahren zu diagnostizierenden neuropsychiatrischen Erkrankungen um Schizophrenie handeln kann.

Polyglutamin-haltige Proteine treten bei einer Vielzahl von neurodegenerativen Erkrankungen auf, so z.B. bei der Huntington'schen Krankheit oder bei spinocerebellären Ataxien. Diese Krankheiten zeichnen sich durch ein mutationsbedingtes erhöhtes Auftreten von sich wiederholenden Glutaminresten in einem oder mehreren Proteinen aus und werden auch als CAG-Repeat-Erkrankungen zusammengefaßt, da das DNA-Triplett CAG für Glutamin codiert.

Dabei führt z.B. bei der Huntington'schen Krankheit eine Mutation im humanen HD-Gen zu einer Erhöhung der Anzahl an Glutaminresten am N-Terminus des Proteins Huntingtin. Das mutante, Polyglutamin-reiche Huntingtin neigt aufgrund seiner fehlerhaften Aminosäuresequenz zur Aggregation mit anderen Polyglutamin-reichen Huntingtin-Molekülen. Dabei bilden sich im Zellkern von Neuronen Agglomerate, die vermutlich für das Entstehen der Krankheit verantwortlich sind. Für das Entstehen krankheitsspezifischer Symptome anderer Poly-

glutamin-Erkrankungen werden ähnliche sequenzbedingte Proteinaggregationen verantwortlich gemacht.

Das aus der WO 0026675 bekannte Verfahren bedient sich eines gegen Polyglutamin-haltige Proteindomänen gerichteten monoklonalen Antikörpers (1C2) und ist daher nicht spezifisch für Schizophrenie. Das Verfahren eignet sich lediglich zum Nachweis von Polyglutamin-haltigen Proteinen. Es bestehen jedoch Zweifel, ob Schizophrenie überhaupt mit dem Auftreten von Polyglutamin-haltigen Proteinen einhergeht. Auf diese Zweifel wird weiter unten ausführlich eingegangen.

Unter der in der WO 0026675 postulierten, wie noch erklärt werden wird jedoch nicht zutreffenden Prämisse, dass Schizophrenie mit dem Vorhandensein von Polyglutamin-haltigen Proteinen einhergeht, könnte das bekannte Verfahren folglich helfen, einen aufgrund einer psychiatrischen Diagnose gehegten Verdacht auf Schizophrenie zu untermauern. Eine Diagnose der Schizophrenie allein mit diesem Verfahren ist dagegen nicht möglich.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, Antikörper für die Diagnose oder die Behandlung von Schizophrenie zur Verfügung zu stellen. Weitere Aufgabe ist es, ein Verfahren zur Verfügung zu stellen, mit dem die Schizophrenie sicher und eindeutig diagnostiziert werden kann. Schließlich ist es eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, Verfahren zur Behandlung von Schizophrenie zur Verfügung zu stellen. Diese Aufgaben werden mit den Merkmalen der vorliegenden Ansprüche 1, 16, 20, 22 und 25 gelöst.

Demnach ist ein Antikörper vorgesehen, der fehlgefaltete schizophreniespezifische Proteine erkennt. In einer bevorzugten Ausgestaltung ist vorgesehen, dass dieser Antikörper durch Immunisierung von geeigneten Tieren mit aufgereinigten

Hirnfraktionen von Schizophreniepatienten gewonnen wird, wobei während der Aufreinigung Schritte vorgesehen sind, die eine Anreicherung von fehlgefalteten Proteinen bewirken.

Um den erfindungsgemäßen Antikörper näher zu erläutern, muß zunächst noch einmal auf die bereits erwähnten Polyglutamin-Erkrankungen zurückgekommen werden. Da diese wie oben geschildert auf eine Mutation in einem Gen zurückgehen, ist die Prädisposition für diese Erkrankungen in der Regel erblich. Sie werden daher auch unter dem Begriff "hereditäre neurodegenerative Erkrankungen" zusammengefaßt. Es ist jedoch umstritten, ob es sich bei Schizophrenie überhaupt um eine Polyglutamin-Erkrankung handelt, da bislang im Gegensatz zur Huntington'schen Krankheit kein Polyglutamin-haltiges Protein identifiziert werden konnte, das mit der Entstehung der Schizophrenie in Verbindung gebracht werden oder bei Schizophrenie-Patienten in anomalen Konzentrationen nachgewiesen werden kann.

Polyglutaminerkrankungen sind überdies seltene Erkrankungen. Im Verhältnis zur Huntington'schen Krankheit treten neurodegenerative Erkrankungen, die nicht mit Polyglutamin korreliert sind, wesentlich häufiger auf, die Alzheimer'sche Erkrankung z.B. 150 mal, die Parkinson'sche Krankheit 30 mal und die Schizophrenie 100 mal häufiger (S. Prusiner 2001, New England Journal of Medicine 344: 1516f).

Zwar ist anerkannt, daß es eine genetische Disposition für Schizophrenie gibt, jedoch scheinen die Ursachen multifaktoriell zu sein. Hierfür spricht, daß selbst der eineiige Zwilling eines an Schizophrenie erkrankten Patienten nur ein 50-%iges Risiko hat, ebenfalls an Schizophrenie zu erkranken (I. Gottesman and I. Shields 1982, Schizophrenia: the epigenetic puzzle, Cambridge University Press, Cambridge; Kendler et al 1993, The Roscommon Family Study. I. Methods, dia-

gnosis of probands, and risk of schizophrenia in relatives, Arch Gen Psychiatry 50 (7): 527).

Der Anmelder hat nun erstmals Hinweise dafür gefunden, daß das Vorhandensein von fehlgefalteten Proteinen als diagnostischer Marker für Schizophrenie dienen kann. Dabei hat der Anmelder postuliert, daß die Fehlfaltung auf posttranslationale Ursachen zurückzuführen ist und nicht mit sequenzbedingten Anomalien wie CAG-Repeats in Verbindung gebracht werden kann. Verantwortlich für die Fehlfaltung kann z.B. ein Fehler während der Proteinprozessierung im Endoplasmatischen Retikulum sein, der z.B. durch fehlerhafte Prozessierungsenzyme wie z.B. Chaperone verursacht werden kann. Ebenso ist denkbar, daß Reparaturenzyme oder Proteasen, die bereits fehlgefaltete Proteine reparieren bzw. verdauen sollen, fehlerhafte Funktionen aufweisen.

Die Fehlfunktionen der Prozessierungsenzyme, Reparaturenzyme und/oder Proteasen können dabei gegebenenfalls durch Mutationen in den jeweiligen Genen verursacht sein, was eine eventuelle familiäre Disposition für Schizophrenie erklären könnte. Als mögliche Kandidaten sind dabei die Gene für die Proteine DISC-1, Dysbindin, Neuregulin und G72 im Gespräch (P. Harrison & M. Owen 2003, Lancet 361:417f).

Erfindungsgemäß werden daher die Hirnfraktionen von Schizophreniepatienten gezielt aufgereinigt, um die posttranslational fehlgefalteten Proteine zu isolieren und anzureichern. Gemäß Anspruch 2 können mit den aufgereinigten Fraktionen in herkömmlicher Weise geeignete Tiere (Kaninchen, Mäuse, Schafe, Hühner) immunisiert und so Antikörper gewonnen werden, die spezifisch an diese Proteine binden.

Anstelle einer Immunisierung ist es möglich, mit rekombinanten Liganden- oder Antikörperbibliotheken, die z.B. in Phagen exprimiert werden, geeignete Antikörper zu identifizieren, die spezifisch an die aufgereinigten, fehlgefalteten Proteine binden, und die nach Identifizierung durch Mutagenese *in vitro* affinitäts-maturiert werden können.

In einer besonders bevorzugten Ausgestaltung ist dabei vorgesehen, dass der Aufreinigung ein Reinigungsschritt mit ionischen Detergenzien ist. Die Aufreinigung der Hirnfraktionen mit ionischen Detergenzien dient dazu, leicht denaturierbare Proteine in der aufzureinigenden Probe auszufällen. Mißgefaltete Proteine, die zur Aggregation neigen, werden dagegen durch ionische Detergenzien nicht denaturiert, verbleiben daher nicht in Lösung und können so in nativer Form für die Immunisierung isoliert werden.

Ein vergleichbares Aufreinigungsprotokoll ist z.B. für die Isolierung eines krankhaften Huntingtin-Exon 1-Fragments bekannt, also des Fragments eines mutanten Proteins, das aufgrund seiner fehlerhaften Polyglutamin-reichen Aminosäuresequenz zur Aggregation neigt (E. Scherzinger et al. 1997, Cell 90: 549). Der Anmelder hat dieses Protokoll, das eigentlich für die Proteinisolierung aus lebenden Zellen konzipiert ist, modifiziert und für die Aufreinigung von β -Faltblattreichen, schizophrenie-spezifischen Proteinen aus gefrorenen Hirnproben von Schizophreniepatienten verwendet.

Um auszuschließen, daß es sich bei den schizophreniespezifischen Proteinen um Polyglutamin-haltige Proteine handelt, hat der Anmelder erfindungsgemäß isolierte Hirnfraktionen von Schizophreniepatienten sowie gesunden Testpersonen einem Western Blot mit dem markierten Antikörper MW1 unterzogen. Dieser Antikörper erkennt ähnlich wie der in der WO 0026675 verwendete Antikörper 1C2 Polyglutamin-reiche Epitope in Proteinen bzw. Polyglutamin-Polymere. In

diesen Versuchen stellte sich heraus, daß sowohl in den Hirnfraktionen von Schizophreniepatienten als auch in denen gesunder Testpersonen Polyglutamin-haltige Proteine nachweisbar waren. Es waren jedoch keine Unterschiede im Polyglutamin-Gehalt feststellbar. Die Ergebnisse werden weiter unten besprochen. Der Anmelder hat daraus gefolgert, daß Polyglutamin-haltige Proteine bei Schizophreniepatienten nicht in erhöhter Konzentration auftreten und daher nicht als diagnostische Marker für Schizophrenie verwendet werden können.

Wie bereits erläutert, dient die Aufreinigung der Hirnfraktionen mit ionischen Detergenzien dazu, mißgefaltete Proteine, die durch diese Detergenzien nicht denaturiert werden, zu isolieren. In einer bevorzugten Ausgestaltung ist überdies vorgesehen, dass der Reinigungsschritt bei 0 - 10 °C durchgeführt wird, da die mißgefalteten Proteine bei höheren Temperaturen auch durch ionische Detergenzien denaturiert werden können. Besonders bevorzugt wird bei diesem Reinigungsschritt eine Temperatur von bei 0 - 5°C verwendet.

In einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens ist vorgesehen, dass das während des Reinigungsschritts verwendete ionische Detergens in einer Konzentration zwischen 0.2 und 2 % eingesetzt wird. Auch diese Maßnahme dient dazu, eine Denaturierung der mißgefalteten Proteine zu verhindern, da diese bei höheren Konzentrationen auch durch ionische Detergenzien denaturiert werden können. Bevorzugt wird bei diesem Reinigungsschritt eine Konzentration verwendet, bei der gewährleistet ist, daß das Detergens noch keine Mizellen ausbildet ("critical micellar concentration", CMC).

Unterhalb der CMC binden Detergensmoleküle an Proteine, während sie oberhalb der CMC Mizellen ausbilden. Eine Konzentration unterhalb der CMC ist für die Aufreinigung von fehlgefalteten Proteinen günstiger, da dann vermehrt Detergens an unerwünschte Proteine bindet und diese im Gegensatz zu den fehlge-

falteten Proteinen in Lösung bringt. Die CMC unterscheidet sich von Detergens zu Detergens. Es ist außerdem zu berücksichtigen, dass die CMC auch vom pH-Wert und der Temperatur des Mediums abhängt. Bevorzugt wird bei diesem Reinigungsschritt eine Konzentration zwischen 0.2 und 1 % verwendet.

In einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung ist vorgesehen, dass das während des Reinigungsschritts verwendete ionische Detergens Sarkosyl ist. Sarkosyl wird deswegen bevorzugt verwendet, da dies ermöglicht, einerseits genügend unerwünschte, korrekt gefaltete Proteine zu denaturieren, andererseits aber die Mikroaggregate der fehlgefalteten Proteine zu erhalten. Diese Aggregations-/Löslichkeitsbalance hängt von der CMC eines Detergens ab.

Das Detergens Sodium dodecyl sulfat (SDS) wirkt dagegen beispielsweise zu stark denaturierend und ist daher für den genannten Zweck ungeeignet.

Besonders bevorzugt wird Sarkosyl in einem Konzentrationsbereich zwischen 0.3 und 0.42 % verwendet. Unter Normalbedingungen erreicht Sarkosyl bei 0.45 % seine CMC.

Während des Reinigungsschritts wird besonders bevorzugt ein Ultrazentrifugationsschritt bei mindestens 100 000 x g eingesetzt. Da die mißgefalteten Proteine unter den erwähnten Bedingungen nicht löslich sind, finden sie sich nach der Ultrazentrifugation im Pellet, während andere Proteine im Überstand bleiben.

In einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung ist vorgesehen, daß während der Aufreinigung ein Reinigungsschritt mit β -Faltblatt-bindenden Substanzen wie Kongorot, Thioflavin oder β -Faltblatt-bindenden Peptiden vorgesehen. Diese Substanzen können ggf. in einer Chromatographie-Säule ö.ä. immobilisiert sein. Da die Sekundärstruktur der fehlgefalteten, schizophreniespezifischen Proteine

72

einen erhöhten Anteil an β -Faltblatt-Domänen ("betasheet") aufweist, können die gesuchten Proteine auf diese Weise gezielt angereichert werden.

Ebenso ist bevorzugt vorgesehen, dass während der Aufreinigung ein Protease-Verdauungsschritt bei einer Temperatur von 0 – 10 °C vorgesehen ist. Dieser Schritt eignet sich ebenso zur Anreicherung von fehlgefalteten, schizophrenie-spezifischen Proteinen, da diese aufgrund ihrer Fehlfaltung unter kalten Bedingungen eine erhöhte Resistenz gegen Proteasen wie z.B. Proteinase K aufweisen, während nicht fehlgefaltete Proteine bei diesen Temperaturen durch Proteasen verdaut werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung ist vorgesehen, dass der Antikörper ein monoklonaler Antikörper ist. Für die Gewinnung monoklonaler Antikörper wird zunächst ein geeignetes Tier immunisiert, und dann in bekannter Weise antikörperproduzierende Zellen (z.B. B-Zellen der Milz) aus dem immunisierten Tier entnommen, mit immortalisierten Myelomzellen fusioniert und selektioniert. Die erhaltenen Hybridomazellen werden dann in Hinblick auf die Spezifität der von Ihnen produzierten Antikörper gegen das mißgefaltete Protein ausgewählt. Anstelle einer Immunisierung ist es möglich, mit rekombinanten Liganden- oder Antikörperbibliotheken, die z.B. in Phagen exprimiert werden, geeignete Antikörper zu identifizieren, die spezifisch an die aufgereinigten, fehlgefalteten Proteine binden, und die nach Identifizierung durch Mutagenese *in vitro* affinitäts-maturiert werden können.

Die Verwendung von monoklonalen Antikörpern ermöglicht eine höhere Spezifität der immunochemischen Nachweisreaktion und verbessert damit die Genauigkeit des Diagnoseverfahrens. Besonders bevorzugt ist dabei vorgesehen, daß der Antikörper ein konformations-spezifischer monoklonaler Antikörper ist, ein Antikörper also, der ein Epitop eines gegebenen Proteins nur in einer bestimmten

Konformation erkennt, z.B. ausschließlich dann, wenn das Epitop in einer β -Faltblatt-Konformation vorliegt.

In einer besonders bevorzugten Ausgestaltung ist vorgesehen, daß der Antikörper ein rekombinanter Antikörper ist. Für die Gewinnung eines solchen Antikörpers wird z.B. aus den Milzzellen immunisierter Tiere DNA isoliert und daraufhin die Paratop-kodierenden cDNA-Fragmente kloniert.

In einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung ist vorgesehen, dass der Antikörper ein hirngängiger Antikörper ist. Unter dem Begriff "hirngängig" wird verstanden, daß die Antikörper die Blut-Hirn-Schranke überwinden können. Dabei sind verschiedene Möglichkeiten denkbar, die Blut-Hirn-Schranke für die Antikörper passierbar zu machen, etwa durch gleichzeitige Gabe geeigneter Pharmazeutika oder hypertotonischer Zuckerlösungen. Andererseits können die Antikörper auch durch molekularbiologische Modifikationen in die Lage versetzt werden, die Blut-Hirn Schranke passieren zu können, z.B. in dem ihre Hydrophobizität erhöht oder ihr Molekulargewicht erniedrigt wird oder die Antikörper mit einer Signalsequenz markiert werden, die deren gezielten Transport über die Blut-Hirn-Schranke fördert.

Monoklonale Antikörper weisen eine sehr viel höhere Spezifität auf als polyklonale Antikörper, bergen aber im therapeutischen Einsatz ebenso wie erstere die Gefahr von Abstoßungsreaktionen. In einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung ist daher vorgesehen, dass der Antikörper ein chimärer oder ein humanisierter Antikörper ist. Bei chimären Antikörpern werden auf molekularbiologischem Wege die konstanten Domänen z.B. von Mausantikörpern durch die entsprechenden konstanten Domänen menschlicher Antikörper ersetzt. Zusätzlich werden bei humanisierten Antikörpern auch die Grundgerüste der variablen Domäne durch entsprechende menschliche Sequenzen ersetzt, so daß nur die für die Antigenbin-

nung verantwortlichen hypervariablen Regionen weiterhin murinen Ursprungs sind. Solchermaßen modifizierte Antikörper verursachen bei der Applikation im Patienten nur sehr geringe und in der Regel tolerierbare Abstoßungsreaktionen.

In einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung ist vorgesehen, dass der Antikörper ein Antikörperfragment ist. Hierbei kann es sich zum Beispiel um monovalente F(ab)-Fragmente handeln, wie sie z.B. nach Papain-Verdau von IgG-Antikörpermolekülen gewonnen werden, oder um bivalente F(ab)₂-Fragmente, wie sie z.B. nach Trypsin-Verdau gewonnen werden. Antikörperfragmente lassen sich leichter in chimäre Antikörper klonieren oder mit humanisierten oder humanen Sequenzen bzw. mit Signalsequenzen kombinieren. Außerdem verursachen Antikörperfragmente eine schwächere Abstoßungsreaktion.

Weiterhin ist ein Verfahren zur Diagnose von Schizophrenie mittels Antikörpern, die an für neuropsychiatrische Erkrankungen spezifische Proteine binden, vorgesehen. Dabei werden die Antikörper mit einer Gewebe- oder Körperflüssigkeitsprobe eines Patienten in Kontakt gebracht und gegebenenfalls gebildete Antikörper-Proteinkomplexe nachgewiesen. Das eventuelle Vorhandensein von Antikörper-Proteinkomplexen wird dabei als positiver Befund für Schizophrenie gewertet. Das Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass einer der zuvor beanspruchten Antikörper verwendet wird.

Dabei hat sich herausgestellt, daß die von dem Anmelder erfindungsgemäß hergestellten Antikörper spezifisch an schizophrenietypische Proteine binden. Um dies zu belegen, hat der Anmelder immunochemische Vergleichsversuche mit Hirnhomogenaten gesunder und schizophreniekranker Testpersonen durchgeführt. Dabei wurden Hirnfraktionen von Schizophreniepatienten sowie gesunden Testpersonen einem Western Blot mit den erfindungsgemäß gewonnenen Antikörpern unterzogen. Im Ergebnis fand der Anmelder immunoreaktive Banden,

die nur in den Hirnfraktionen von Schizophreniepatienten nachweisbar waren. Die erfindungsgemäß gewonnenen Antikörper erkennen also Proteine, die nur bei Schizophreniepatienten auftreten. Die Ergebnisse werden weiter unten besprochen.

In einer bevorzugten Ausgestaltung des Verfahrens ist vorgesehen, dass das Vorhandensein von Antikörper-Proteinkomplexen mittels ELISA, Western-Blot oder immungekoppelter Fluoreszenzmethoden nachgewiesen wird. Es ist jedoch auch jedes andere geeignete Verfahren, mit dem die Bindung von Antikörpern bzw. anderen Sondenmolekülen an Antigene nachgewiesen werden kann, denkbar.

Da die schizophrenie-spezifischen posttranslational fehlgefalteten Proteine vermutlich schon lange vor Ausbruch der Krankheit in Gewebe- oder Körperflüssigkeitsproben eines Patienten nachweisbar sind, eignet sich das erfindungsgemäße Verfahren auch dazu, eine gegebenenfalls vorhandene Disposition für Schizophrenie nachzuweisen. In einer bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens ist daher vorgesehen, dass der positive Befund für Schizophrenie eine diagnostizierte Prädisposition und/oder eine positive Diagnose für Schizophrenie oder eine Untergruppe der Schizophrenie ist.

In einer besonders bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens ist vorgesehen, dass die zu untersuchende Körperflüssigkeitsprobe Liquor, Urin, Blut oder Serum ist. Es ist davon auszugehen, daß bei einem schizophrenie-Patienten krankheitsspezifische mißgefaltete Proteine außer in der Hirnmatrix auch in Körperflüssigkeiten vorkommen. Dies gilt insbesondere für den Liquor (Spinalflüssigkeit), der in ständiger Verbindung mit dem Gehirn steht, und von dem in der klinischen Routine durch Punktion des Rückenmarkskanals gefahr- und schmerzlos Proben genommen werden können.

Die vorliegende Erfindung beschränkt sich jedoch nicht nur auf ein Verfahren zur Diagnose von Schizophrenie, sondern erstreckt sich auch auf ein Verfahren zur Behandlung dieser Erkrankung.

Dabei ist vorgesehen, daß einem Patienten Antikörper in hirngängiger Form appliziert werden. Das Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass einer der zuvor beanspruchten Antikörper verwendet wird. Zweck einer solchen Behandlung ist es, dass die auf erfindungsgemäße Weise ins Gehirn gelangten Antikörper dort an schizophrenie-spezifische, fehlgefaltete Proteine binden und z.B. deren Aggregation mit anderen fehlgefalteten Proteinen verhindern.

In einer besonders bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens ist überdies vorgesehen, dass die applizierten Antikörper mit pharmazeutisch aktiven Substanzen gekoppelt sind. Bei diesen Substanzen kann es sich z.B. um Marker handeln, die das vom Antikörper gebundene Protein dergestalt markieren, daß es von einer Protease verdaut oder von einer Mikrogliazelle phagozytiert wird. Es kann sich dabei aber auch um Substanzen handeln, die die von den Antikörpern markierten Proteine für bildgebende Verfahren (NMR, CT) sichtbar machen.

Ein anderes erfindungsgemäßes Verfahren zur Behandlung von Schizophrenie sieht vor, dass einem Patienten niedermolekulare, hirngängige Agentien appliziert werden, die die gleichen Stellen erkennen wie die gegen fehlgefaltete, schizophrenie-spezifische Proteine gerichteten zuvor beanspruchten Antikörper. Hierbei kann es sich zum Beispiel um durch Klonierung gewonnene Moleküle handeln, deren cDNA in einer molekularbiologischen Library humaner Antikörper oder Peptide identifiziert wurde.

17

Bevorzugt handelt es sich bei diesen niedermolekularen Agentien um organische Moleküle, die spezifisch an die von einem der zuvor beanspruchten Antikörper erkannten Epitope schizophrenie-spezifischer Proteine binden. Solche Agentien werden auch als "small molecular drugs" bezeichnet. Es kann sich dabei sowohl um Naturstoffe als auch um synthetisch hergestellte Moleküle handeln. Small molecular drugs bieten gegenüber Antikörpern oder Antikörperfragmenten den Vorteil, daß sie oral applizierbar sind, selten immunologische Abstoßungsreaktionen hervorrufen und aufgrund ihres geringen Molekulargewichts die Blut-Hirn-Schranke leichter passieren können.

Besonders bevorzugt weisen diese niedermolekularen Agentien mehrere über Spacer miteinander verbundene Liganden aufweisen, wobei die Liganden jeweils spezifisch an verschiedene nicht-überlappende, von den zuvor beanspruchten Antikörpern erkannte Epitope schizophrenie-spezifischer Proteine binden. Solche Agentien werden auch als "composite molecules" bezeichnet und bieten vor allem den Vorteil, daß sie eine sehr viel höhere Affinität zu dem zu bindenden Protein aufweisen. So multipliziert sich z.B. die Affinität eines Moleküls zu dem zu bindenden Protein mit jedem hinzukommenden Liganden.

Ein anderes erfindungsgemäßes Verfahren zur Behandlung von Schizophrenie sieht vor, dass einem Patienten immunogene Substanzen appliziert werden, die eine Immunantwort evozieren, dergestalt dass das Immunsystem des Patienten Antikörper gegen fehlgefaltete, schizophreniespezifische Proteine ausbildet.

Bei diesen Substanzen kann es sich z.B. um schizophreniespezifische Proteine handeln, wie sie mit einem der zuvor beanspruchten Aufreinigungsverfahren isoliert werden. Um diesen Proteinen ihre gegebenenfalls vorhandene Pathogenizität zu nehmen, ist es dabei unter Umständen erforderlich, sie vor der Applikation einer geeigneten Behandlung zu unterziehen. Ebenso kann es sich bei diesen

15

Substanzen z.B auch um Fragmente dieser schizophreniespezifischen Proteine handeln, die lediglich noch die immunogenen Bereiche enthalten, aber nicht mehr pathogen sind.

19

Die Erfindung soll im folgenden durch ein nicht ausschließliches Beispiel verdeutlicht werden:

Beispiel: Isolierung missgefalteter Proteine bei Schizophrenie

Es werden schockgefrorene Hirnproben der Hirnregionen BA9 und BA24 von verstorbenen Patienten, bei denen zu Lebzeiten eine Schizophrenie diagnostiziert wurde verwendet:

A: Verwendete Lösungen (sterilfiltriert):

VRL-Puffer:

50mM HEPES, pH 7,5

250mM Sucrose

5mM MgCl₂

100mM KCH₃COO

2mM PMSF

Proteaseinhibitor-Tabletten

"Complete EDTA-free"

(Roche 1873580)

High-Salt-Puffer

50mM HEPES, pH 7,5

1M NaCl

10mM MgCl₂

100 U/ml DNase I

Sarkosyl-Puffer

50mM HEPES, pH 7,5

0,5% Sarkosyl

High-Sucrose-Puffer

50mM HEPES, pH 7,5

1,6M Sucrose

100mM KAc (KCH₃COO)

0,5% Triton-X-100

1mM PMSF#

B: Herstellung des 10%igen Hirnhomogenats:

Gehirnprobe auf Trockeneis einwiegen und in entsprechendem Volumen VRL-Puffer homogenisieren. Aufbewahrung bei -80°C .

C. Aufreinigung:

1. Homogenat auf Eis auftauen und mit 0,5% Triton-X-100 in 2ml-Mikroreaktionsgefäßen bei 20000g und 4°C 20 min zentrifugieren. Überstand sammeln und Pellet erneut im gleichen Volumen VRL-Puffer mit Triton resuspendieren.
2. Zweite Zentrifugation wie oben. Überstand zum ersten Überstand geben, davon 500µl separat bei -80°C aufbewahren.
3. Pellets in insgesamt 4ml High-Sucrose-Puffer lösen. Ultrazentrifugation in Ultra-Clear Centrifuge Tubes 5ml bei 130000g, 4°C , 45min (Beckmann MLS-50, 40000rpm) Überstand sammeln, überstehende Lipidschicht in separatem Mikroreaktionsgefäß einfrieren.
4. Pellet wieder in 4ml High-Sucrose-Puffer resuspendieren und erneut zentrifugieren wie oben. Überstand zum ersten Überstand geben. Aufbewahrung bei -20°C
5. Pellet in 4ml High-Salt-Puffer lösen, Inkubation über Nacht bei 4°C . Ultrazentrifugation in Ultra-Clear Centrifuge Tubes 5ml bei 130000g, 4°C , 45min (Beckmann, MLS-50, 40000rpm). Überstand sammeln und Pellet erneut in High-Salt-Puffer (ohne DNase) resuspendieren. Falls erforderlich, Pallet dazu in einer Insulinspritze mit 0.6mm bis 0.4mm Kanüle aufnehmen.

6. Zweite Zentrifugation wie oben. Überstand zum ersten Überstand geben, davon 500µl separat bei -80°C aufbewahren. Storage bei -20°C

7. Pellet in 200µl Sarkosyl-Puffer lösen. Dazu Pellet zunächst in 100µl Puffer mit der Pipettenspitze zerkleinern und in ein 0,5ml-Mikroreaktionsgefäß überführen. Gefäß und Pipettenspitze mit weiteren 100µl Sarkosyl-Puffer spülen und zu den ersten 100µl dazugeben. Mit Insulinspritze und 0.4mm Kanüle das Pellet lösen. Bei 4°C ca. 1 Stunde im Rotator inkubieren. Evtl. nach der Hälfte der Zeit erneut mit einer Insulinspritze homogenisieren.

8. Ultrazentrifugation in Mikroreaktionsgefäß (Beckmann 357448 Polyallomer Tubes with Snap-on Caps), deren Gewicht auf einer Analysenwaage bestimmt wurde, Bei 112000g, 4°C, 45min) (Beckmann TLA-55, 50000rpm). Überstand sammeln und erneut mit 200µl Sarkosyl-Puffer waschen. Resuspension und Zentrifugation wie oben.

9. Überstand sammeln und Gewicht der Pellets bestimmen. Aufbewahrung bei -80°C.

D: Herstellung von polyklonalen Antikörpern

Hühner, Kaninchen und Mäuse (BALB/c) werden mit ca. 500-1000 µg/100µl von vier Schizophreniepatienten gepoolten Pellets immunisiert. Dabei wurde dem (aggregierten) Antigen RIBI (Sigma) als Adjuvans zugegeben. Die Tiere werden dann zweimal im Abstand von 3 Wochen geboostert. Zwei Wochen nach der letzten Boosterung wird die Immunantwort untersucht. Bei Hühnern werden jeweils eine Woche nach der Boosterung, angefangen nach der ersten Boosterung,

Eier gesammelt und aus dem Eigelb Antikörper (IgY) nach Standardmethoden isoliert.

E: Herstellung von monoklonalen Antikörpern

Für die Gewinnung monoklonaler Antikörper wird wie beschrieben ein geeignetes Tier immunisiert, und dann in bekannter Weise (G Köhler, C Milstein 1975, Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity, Nature, 256, 495-497) antikörperproduzierende Zellen (z.B. B-Zellen der Milz) aus dem immunisierten Tier entnommen, mit immortalisierten Myelomzellen fusioniert und selektioniert. Die erhaltenen Hybridomazellen werden dann in Hinblick auf die Spezifität der von Ihnen produzierten Antikörper gegen das mißgefaltete Protein ausgewählt.

F: immunologische Charakterisierung

Mit diesen Antikörpern wurden Hirnhomogenate Normaler oder Schizophrener Patienten per Western Blot bzw. DotBlot untersucht. Dabei zeigen die Fig. 1, 2 und 3 - 7 Western Blots, die mit SDS-Polyacrylamidgelen durchgeführt wurden, und die Fig. 3 einen Dot Blot, bei dem die Proteine unter nativen Bedingungen geblottet wurden.

Im einzelnen zeigt:

Fig. 1 einen Western blot von biochemisch fraktioniertem Pellet oder 1. Überstand (nach Sarkosylinkubation) von Hirnhomogenaten Normaler oder Schizophrener Patienten nach biochemischer Fraktionierung auf schwer lösliche, sarkosylresistente Proteinaggregate (Antikörper: Hühner-IgY). S = 1. Überstand, P = Pellet; N1 - N4 = Hirn gesunder Personen, S1 - S4 = Hirn von Schizophrenie-

Patienten. Die Pfeile beziehen sich auf immunoreaktive Banden, die spezifisch nur bei Schizophreniepatienten auftreten, und somit biologische Marker darstellen (p85ch, p58ch, p20ch);

Fig. 2 einen Western blot von biochemisch fraktioniertem Pellet oder 1. Überstand von Hirnhomogenaten Normaler oder Schizophrener Patienten nach biochemischer Fraktionierung auf schwer lösliche, sarkosylresistente Proteinaggregate. (Antikörper: Mausserum). S= 1. Überstand, P= Pellet; N1 - N4 = Hirn gesunder Personen, S1 - S4 = Hirn von Schizophrenie-Patienten. Die Pfeile beziehen sich auf immunoreaktive Banden, die spezifisch nur bei Schizophreniepatienten auftreten, und somit biologische Marker darstellen (p55mo, p35mo);

Fig. 3 einen Dotblot unter nicht denaturierenden Bedingungen von einem Pool von Sarkosyl-resistentem Pellet (Fraktion X) von gepooltem Normalhirn (N; BA9) und gepooltem Schizophreniehirn (S; BA9). Als Antikörper wurde der monoklonale konformationsspezifische Antikörper RC1 verwendet, der die native Oberflächenstruktur eines Proteins, das spezifisch bei Schizophrenie vorhanden ist, mit hoher Konformationsspezifität erkennt;

Fig. 4 einen Western blot von biochemisch fraktioniertem Pellet von Hirnhomogenaten Normaler oder Schizophrener Patienten. Die Homogenate wurden nach dem obigen Protokoll aufgereinigt. Antikörper stammen aus Maus-Antiserum. P = Pellet; N1 - N4 = Hirn gesunder Personen, S1 - S4 = Hirn von Schizophrenie-Patienten. Die Pfeile beziehen sich auf immunoreaktive Banden, die spezifisch nur bei Schizophreniepatienten auftreten, und somit biologische Marker darstellen (p45mo2, p37mo2);

Fig. 5 einen Western blot von biochemisch fraktioniertem Pellet von Hirnhomogenaten Normaler oder Schizophrener Patienten. Die Homogenate

wurden nach dem obigen Protokoll aufgereinigt. Als Antikörper wurde der monoklonale AK SX16.3 verwendet. P = Pellet; N1 - N4 = Hirn gesunder Personen, S1 - S4 = Hirn von Schizophrenie-Patienten. Die Pfeile beziehen sich auf immunoreaktive Banden, die spezifisch nur bei Schizophreniepatienten auftreten, und somit biologische Marker darstellen (p37, p-stack). p-stack ist eine Immunoreaktivität aus dem Well. Es handelt sich hierbei um unlösliche Proteine, die beim Beschicken des Gels mit aufgenommen wurden, aber aufgrund ihrer Unlöslichkeit nicht im Gel transportiert wurden. Ein Teil von p-stack ist in Lösung gegangen und bildet p37;

Fig. 6 einen Western blot von biochemisch fraktioniertem Pellet bzw. dem 1. Überstand von Hirnhomogenaten Normaler oder Schizophrener Patienten. Die Homogenate wurden nach dem obigen Protokoll aufgereinigt. Antikörper stammen aus Kaninchen-Antiserum. S = 1.Überstand, P = Pellet; N1 - N4 = Hirn gesunder Personen, S1 - S4 = Hirn von Schizophrenie-Patienten. Obwohl es keine immunoreaktiven Banden gibt, die ausschliesslich bei Schizophrenen, aber nicht bei gesunden Personen auftreten, ist deutlich zu sehen, dass im Bereich der markierten Rechtecke nur bei Schizophrenen Immunoreaktivität vorhanden ist. Das bedeutet, dass in dem molekularen Bereich unterhalb von 60kD ausschliesslich bei Schizophrenen unlösliche Proteine pelletieren;

Fig. 7 einen Western blot von biochemisch fraktioniertem Pellet bzw. dem 1. Überstand von Hirnhomogenaten Normaler oder Schizophrener Patienten. Die Homogenate wurden nach dem obigen Protokoll aufgereinigt. Als Antikörper wurde der monoklonale Antikörper: MW1, verwendet, der Polyglutamin-haltige ("polyQ") Epitope erkennt [Ko et al., 2001, Brain Research Bulletin 56:319f] S = 1.Überstand, P = Pellet; N1 - N4 = Hirn gesunder Personen, S1 - S4 = Hirn von Schizophrenie-Patienten. BA9 und BA24 bezeichnen verschiedene Hirnregionen nach Brodman. Man erkennt Polyglutamin-haltige Banden am oberen Rand des

25

22

Gels, bei denen es sich um im Well pelettierte, SDS-resistente, polyglutamin-Multimere handelt, die beim Beschicken des Gels mit aufgenommen wurden, aber aufgrund ihrer relativen Unlöslichkeit nicht im Gel transportiert wurden. Es ist jedoch kein Unterschied zwischen Normalen und Schizophrenie-Patienten festzustellen. Es liegt also ein Hinweis dafür vor, daß Polyglutamin-haltige Proteine nicht Schizophrenie-spezifisch sind.

Patentanwälte Schaefer & Emmel

European Patent Attorneys

Dipl. - Phys. Konrad Schaefer

Dipl. - Biol. Dr. Thomas Emmel

Tel: (0)-40-6562051 Fax: -6567919

Gehölzweg 20, D-22043 Hamburg

Commerzbank 22 / 58226 Blz 200 40 000

Postbank 225058 - 208 Blz 200 10 020

13. Februar 2004

Uns. Zeichen: 03705

Carsten Korth

Antikörper sowie Verfahren zur Diagnose und Behandlung von Schizophrenie

Patentansprüche:

1. Antikörper für die Diagnose oder die Behandlung von Schizophrenie, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Antikörper fehlgefaltete, schizophrenie-spezifische Proteine erkennt.
2. Antikörper gemäß Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass dieser durch Immunisierung von geeigneten Tieren mit aufgereinigten Hirnfraktionen von Schizophreniepatienten gewonnen wird, wobei während der Aufreinigung Schritte vorgesehen sind, die eine Anreicherung von fehlgefalteten Proteinen bewirken.
3. Antikörper gemäß Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass während der Aufreinigung ein Reinigungsschritt mit ionischen Detergenzien vorgesehen ist.

S-S-PATTRANSFERNKORTH040212-PREFINAL-SCHIZOPHRR.RTF

4. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Reinigungsschritt bei 0 - 10 °C durchgeführt wird.
5. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass das während des Reinigungsschritts verwendete ionische Detergens in einer Konzentration zwischen 0.2 und 2 % eingesetzt wird.
6. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass das während des Reinigungsschritts verwendete ionische Detergens Sarkosyl ist.
7. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 6, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Reinigungsschritt mit einem ionischen Detergens einen Ultrazentrifugationsschritt bei mindestens 100 000 x g umfaßt.
8. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass während der Aufreinigung ein Reinigungsschritt mit ggf. immobilisierten, β -Faltblatt-bindenden Substanzen wie Kongorot, Thioflavin oder β -Faltblatt-bindenden Peptiden vorgesehen ist.
9. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 8, **dadurch gekennzeichnet**, dass während der Aufreinigung ein Protease-Verdauungsschritt bei einer Temperatur von 0 - 10 °C vorgesehen ist.
10. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 9, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Antikörper ein monoklonaler Antikörper ist.

11. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 10, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Antikörper ein konformations-spezifischer monoklonaler Antikörper ist.
12. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 11, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Antikörper ein rekombinanter Antikörper ist.
13. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 12, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Antikörper ein hirngängiger Antikörper ist.
14. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 13, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Antikörper ein chimärer oder humanisierter Antikörper ist.
15. Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 14, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Antikörper ein Antikörperfragment ist.
16. Verfahren zur Diagnose von Schizophrenie mittels Antikörpern, die an für neuropsychiatrische Erkrankungen spezifische Proteine binden, bei dem
 - a) die Antikörper mit einer Gewebe- oder Körperflüssigkeitsprobe eines Patienten in Kontakt gebracht werden,
 - b) gegebenenfalls gebildete Antikörper-Proteinkomplexe nachgewiesen werden, und
 - c) das eventuelle Vorhandensein von Antikörper-Proteinkomplexen als positiver Befund für Schizophrenie gewertet wird,**dadurch gekennzeichnet**, dass
 - d) bei dem Verfahren ein Antikörper nach einem der Ansprüche 1 - 15 verwendet wird.

17. Verfahren gemäß Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass das Vorhandensein von Antikörper-Proteinkomplexen mittels ELISA, Western-Blot oder immungekoppelter Fluoreszenzmethoden nachgewiesen wird.
18. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 16 und/oder 17, **dadurch gekennzeichnet**, dass der positive Befund für Schizophrenie eine diagnostizierte Prädisposition und/oder eine positive Diagnose für Schizophrenie oder eine Untergruppe der Schizophrenie ist.
19. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 16 - 18, **dadurch gekennzeichnet**, dass die zu untersuchende Körperflüssigkeitsprobe Liquor, Urin, Blut oder Serum ist.
20. Verfahren zur Behandlung von Schizophrenie mittels Antikörpern, die einem Patienten in hirngängiger Form appliziert werden, **dadurch gekennzeichnet**, dass bei dem Verfahren ein Antikörper nach einem der Ansprüche 1 - 15 verwendet wird.
21. Verfahren gemäß Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Antikörper mit pharmazeutisch aktiven Substanzen gekoppelt sind.
22. Verfahren zur Behandlung von Schizophrenie, bei dem einem Patienten niedermolekulare, hirngängige Agentien appliziert werden, die die gleichen Oberflächenstrukturen erkennen wie die gegen fehlgefaltete, schizophrenie-spezifische Proteine gerichteten Antikörper gemäß einem der Ansprüche 1 - 15.
23. Verfahren gemäß Anspruch 22, **dadurch gekennzeichnet**, dass die niedermolekularen Agentien organische Moleküle sind, die spezifisch an von An-

Antikörpern gemäß einem der Ansprüche 1 - 15 erkannte Epitope schizophrenie-spezifischer Proteine binden.

24. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 22 und/oder 23, bei dem einem Patienten niedermolekulare, hirngängige Agentien appliziert werden, die mehrere über Spacer miteinander verbundene Liganden aufweisen, wobei die Liganden jeweils spezifisch an verschiedene nicht-überlappende, von Antikörpern gemäß einem der Ansprüche 1 - 15 erkannte Epitope schizophrenie-spezifischer Proteine binden.
25. Verfahren zur Behandlung von Schizophrenie, bei dem einem Patienten immunogene Substanzen appliziert werden, die eine Immunantwort evozieren, dergestalt dass das Immunsystem des Patienten Antikörper gegen fehlgefaltete, schizophreniespezifische Proteine ausbildet.
26. Verfahren gemäß Anspruch 25, **dadurch gekennzeichnet**, dass es sich bei diesen immunogenen Substanzen um schizophreniespezifische, fehlgefaltete Proteine oder Fragmente davon handelt.

31

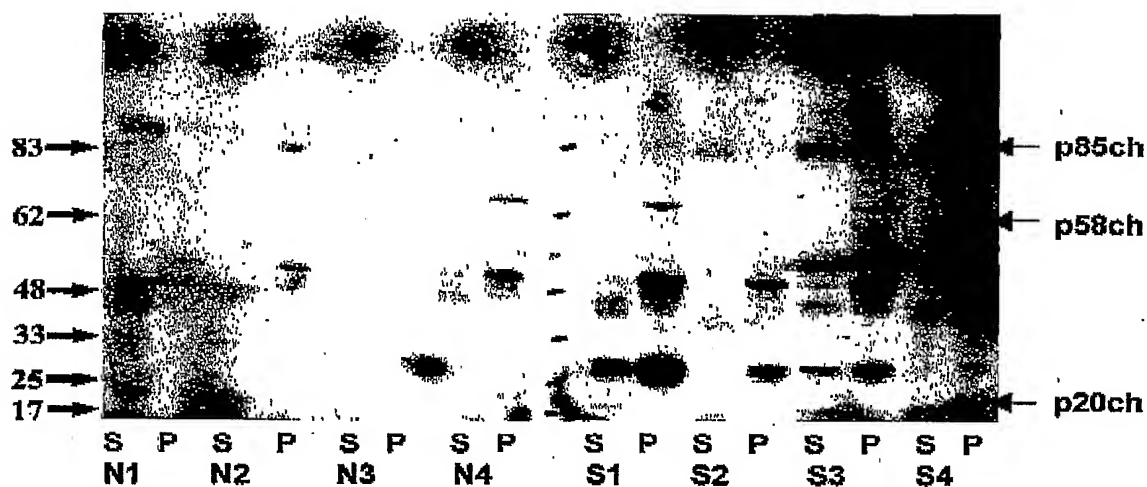


Fig. 1

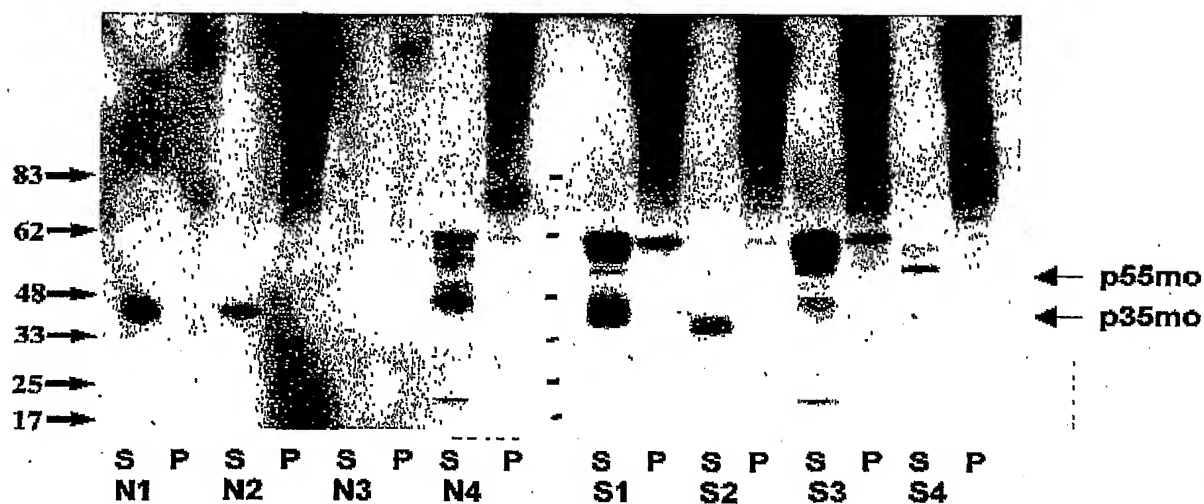


Fig. 2

32

2

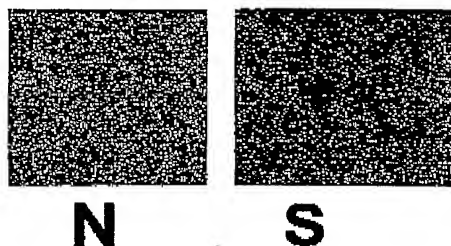


Fig. 3

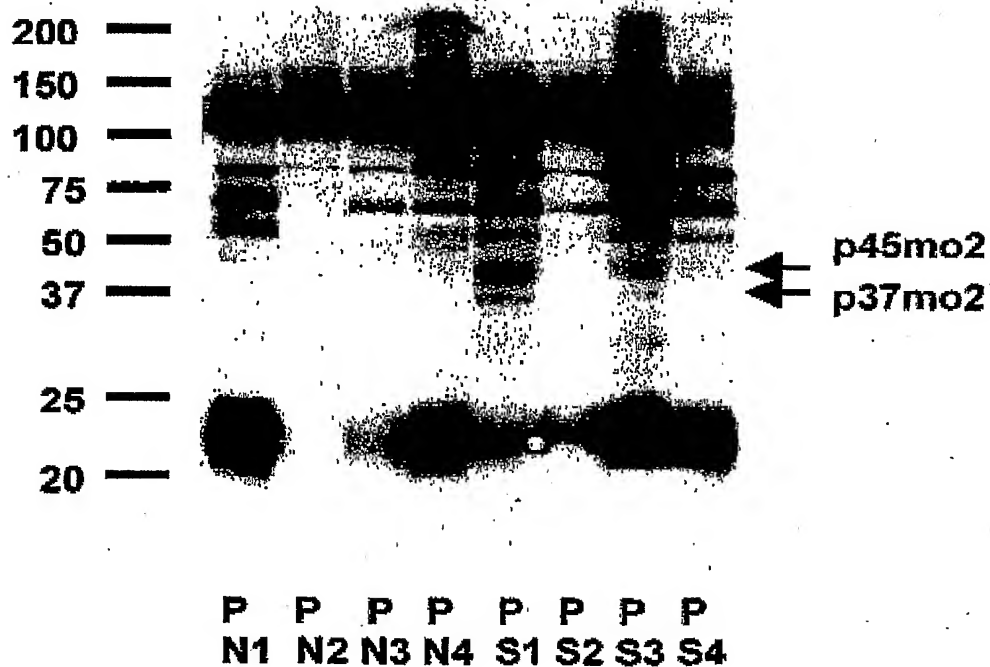


Fig. 4

33

3

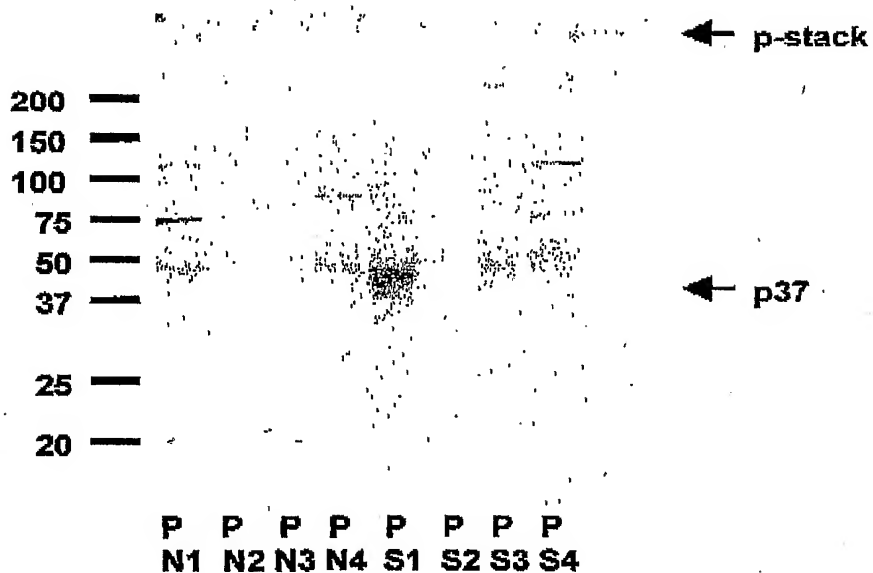


Fig. 5

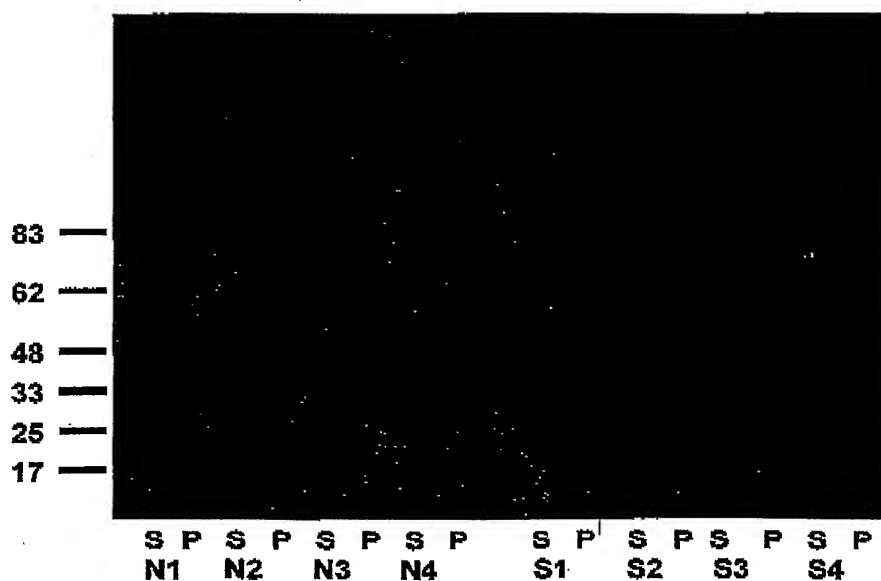


Fig. 6

36

4

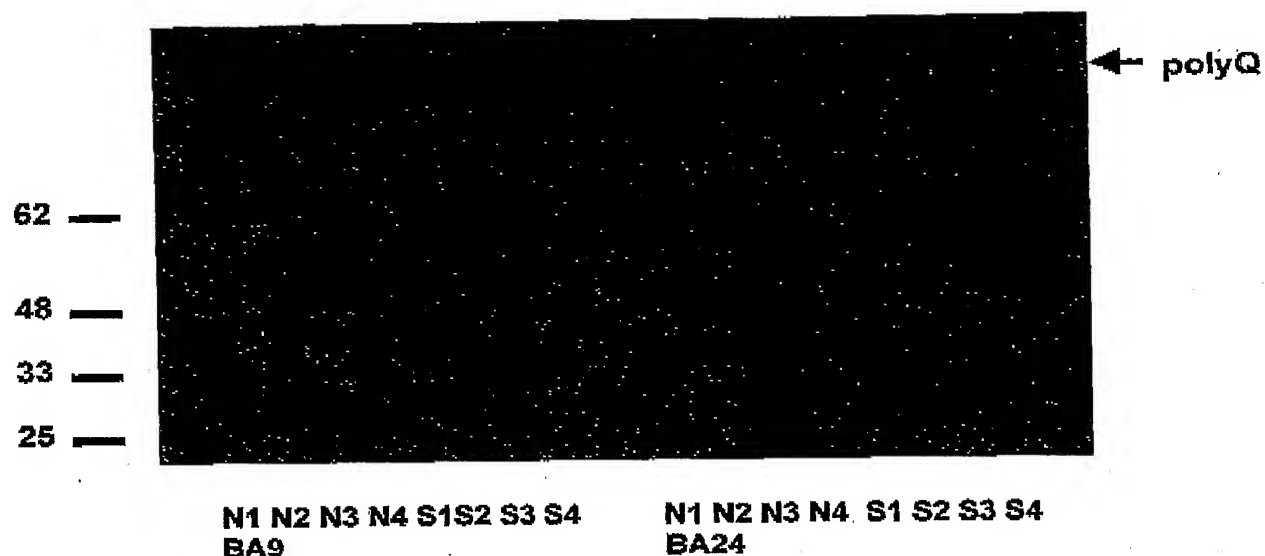


Fig. 7